



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PISA

Dipartimento di Scienze Veterinarie

SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN  
“PATOLOGIA E CLINICA DEGLI ANIMALI D'AFFEZIONE”

TESI DI SPECIALIZZAZIONE

# **ASPETTI CLINICI DELLA CHERATOCONGIUNTIVITE EOSINOFILICA FELINA**

RELATORE

*Ch.mo Prof.*

***Giovanni Barsotti***

CANDIDATA

***Dott.ssa Alessandra de Stefano***

atricola N° 499046

**ANNO ACCADEMICO 2014/15**

# **INDICE**

|                          |               |
|--------------------------|---------------|
| <b>INTRODUZIONE.....</b> | <b>PAG. 3</b> |
|--------------------------|---------------|

## **1.PARTE GENERALE**

|   |        |
|---|--------|
| 1.1 ANATOMIA DELLA CORNEA.....                                      | PAG. 5 |
| 1.2 RISPOSTE CORNEALI ALLA MALATTIA.....                            | PAG.12 |
| 1.3 GUARIGIONE CORNEALE.....  | PAG.15 |
| 1.4 ASPETTI CLINICI DELLA CHERATOCONGIUNTIVITE<br>EOSINOFILICA..... | PAG.17 |
| 1.5 EZIOLOGIA.....  | PAG.19 |
| 1.6 DIAGNOSI.....   | PAG.20 |
| 1.5 TERAPIA.....  | PAG.20 |

## **2.CASISTICA PERSONALE**

|                             |        |
|-----------------------------|--------|
| 2.1 INTRODUZIONE.....       | PAG.23 |
| 2.2 MATERIALI E METODI..... | PAG.23 |
| 2.3 CASI CLINICI.....       | PAG.24 |
| 2.4 CONCLUSIONI.....        | PAG.34 |

|                          |               |
|--------------------------|---------------|
| <b>BIBLIOGRAFIA.....</b> | <b>PAG.37</b> |
|--------------------------|---------------|

# INTRODUZIONE

La cheratocongiuntivite eosinoflica felina è una cheratopatia infiammatoria cronica del gatto di tipo infiltrativo, mono o bilaterale. L'aspetto clinico può variare, ma in genere è caratteristico per la presenza di una placca proliferativa da bianca a rosa, irregolare e vascolarizzata che frequentemente origina dal limbo nasale o temporale, dalla periferia corneale, o dall'adiacente congiuntiva bulbare. La patologia sembra non avere predisposizione di sesso, razza o età ed è più spesso monolaterale. L'eziologia della cheratocongiuntivite eosinoflica è ancora sconosciuta. La malattia sembra poter essere causata da una sospetta riposta immunomediata ad uno stimolo antigenico sconosciuto. Sono state proposte infatti, come cause eziopatogenetiche della malattia, reazioni da ipersensibilità (tipo I e IV). Il ruolo dell'FHV-1 nell'eziologia della malattia è ancora da chiarire. La cheratocongiuntivite eosinoflica può essere facilmente diagnosticata tramite un semplice raschiato citologico corneale e congiuntivale. La terapia deve essere somministrata regolarmente e poiché prevede l'utilizzo di farmaci immunomodulatori richiede controlli periodici. Dopo la remissione della fase acuta si deve trovare una dose minima efficace che limiti le recidive. Si può tentare di sospendere la terapia dopo un lungo periodo di trattamento (almeno qualche mese) e dopo aver ridotto in modo progressivo la frequenza di somministrazione. La prognosi è sempre riservata, a causa della cronicità della patologia e dell'insorgenza delle recidive nonostante il trattamento. Le recidive sono in genere dovute alla scarsa compliance del proprietario. Lo scopo di questa valutazione retrospettiva dei casi clinici visitati presso il Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Pisa è stato quello di descrivere quali siano le più comuni caratteristiche cliniche della cheratocongiuntivite eosinoflica felina e quale sia la risposta al trattamento

medico topico nei soggetti trattati con un protocollo il più possibile standardizzato.

# 1.PARTE GENERALE

## 1.1ANATOMIA DELLA CORNEA

La cornea rappresenta con la sclera la porzione più esterna del globo oculare, la tunica fibrosa, che costituisce l'involucro di sostegno "scheletrico" dell'occhio. Il punto di transizione anatomica tra le due è il limbo corneo-sclerale. A differenza della sclera, la cornea offre caratteristiche particolari (assieme alla lente), quali trasparenza ed elevato potere diottrico, che consentono una visione emmetropica. La trasparenza è assicurata da una superficie liscia otticamente, dalla mancanza di strutture vascolari e di pigmento e dalla relativa disidratazione. Inoltre, speciali caratteristiche anatomiche, metaboliche, e immunitarie consentono, in equilibrio fisiologico, il mantenimento di tale trasparenza. Il potere diottrico corneale è la somma dei poteri refrattivi di 3 interfacce diverse, aria/lacrime, lacrime/cornea e cornea/acqueo, in rapporto al raggio di curvatura corneale. Pertanto, il potere refrattivo della cornea è maggiore anche di quello della lente, in quanto la rifrazione che la luce subisce nel passare da un mezzo relativamente rarefatto, come l'aria, al liquido della camera anteriore è maggiore di quella offerta dalla lente quando il raggio luminoso passa dall'umor acqueo al vitreo. Lo spessore corneale varia in base all'età e alla localizzazione. La cornea centrale è leggermente più sottile di quella perilimbare. Misurazioni pachimetriche hanno dimostrato un aumento dello spessore corneale con l'età e verso la periferia. Nel gatto lo spessore corneale non varia significativamente da una zona all'altra, ma aumenta comunque con l'età. Embriologicamente la cornea ha due derivazioni: epitelio e stroma anteriore hanno derivazione ectodermica; stroma posteriore ed endotelio rappresentano la porzione più esterna delle tre onde di neurocresta che riempiono la camera anteriore nella vita fetale. Il primo abbozzo di cornea ectodermica

nel cane si ha al venticinquesimo giorno di gestazione, quando la vescicola della lente si separa dal placode ectodermico, creando il primo spazio virtuale per la camera anteriore. L'endotelio può essere riconoscibile attorno al trentaduesimo giorno di gestazione, mentre la membrana di Descemet compare al quarantacinquesimo. La cornea finisce la sua maturazione con epitelio multistratificato attorno al sedicesimo giorno postnatale (Aguirre et al.,1972; Cook, 1999). L'anatomia del tessuto corneale formato è caratterizzata da vari strati che, dall'esterno verso l'interno, sono rappresentati dal film lacrimale, dall'epitelio con la sua lamina basale, dallo stroma, dalla membrana di Descemet e dall'endotelio. La membrana di Descemet rappresenta la lamina basale dell'endotelio e, a differenza della lamina basale epiteliale, si ispessisce nettamente nel corso della vita. Il *film lacrimale* e un corretto ammiccamento sono essenziali per lubrificare e rendere liscia e otticamente efficace la superficie epiteliale, in verità di per sé resa irregolare dalla presenza di microvilli che costituiscono la normale membrana esterna delle cellule epiteliali superficiali. L'epitelio lubrificato e reso uniformemente liscio dal film lacrimale non altera l'immagine e mantiene omogenea la capacità diottrica corneale. Il film lacrimale fornisce la maggior fonte di ossigeno per il metabolismo corneale e apporta anche numerose molecole necessarie a meccanismi nutritivi e di difesa (albumine, IgA, IgG, IgD ed IgE; ceruloplasmine e transferrine; istamina; attivatore del plasminogeno; complemento; interferone; prostaglandine; lisozima; betalina e lattoferrina; proteinasi del film lacrimale). Contribuisce anche alla rimozione delle cellule corneali esfoliate ed è il veicolo attraverso cui avviene la migrazione delle cellule infiammatorie in caso di necessità. L'epitelio corneale è pluristratificato, squamoso, ma ovviamente non cheratinizzato. Il numero degli strati cellulari varia da 5 a 15. Le cellule basali, quelle aderenti alla

lamina basale, sono colonnari, mentre le intermedie hanno forma triangolare, tipo farfalla, e vengono dagli anglosassoni denominate wing cell. Le cellule superficiali sono appiattite e più squamose, le più esterne perdono il nucleo e vengono eliminate alla superficie. Il processo di turnover è di circa 7 giorni e testimonia la grande capacità metabolica e replicativa dell'epitelio (Hanna et al, 1961). Al limbo l'epitelio corneale continua senza interruzione nell'epitelio congiuntivale; inoltre, sono presenti cellule staminali che rappresentano la sorgente maggiore per la formazione delle cellule epiteliali corneali. La migrazione centripeta di queste cellule consente il rinnovo costante delle cellule basali ed è di vitale importanza anche per la guarigione dei difetti erosivi/ulcerativi. Le cellule epiteliali più superficiali hanno giunzioni serrate (tight) che le saldano a 360°, rendendo impermeabile lo spazio intercellulare a molte sostanze. Questa barriera fisiologica è importante nel prevenire infezioni ed edema, ma costituisce anche un ostacolo per la penetrazione di farmaci ad uso topico che non abbiano caratteristiche di liposolubilità. La lamina basale è prodotta dalle cellule epiteliali basali ed aderisce allo stroma sottostante mediante emidesmosomi e complessi aderenti, formati da fibrille che aderiscono a placche proteiche di ancoraggio stromale. La lamina basale rappresenta il mezzo con cui lo strato epiteliale aderisce strettamente allo stroma e alterazioni di questa struttura laminare sono da alcuni autori ritenute causa o parte dell'eziologia delle ulcere indolenti del cane. Laminina, fibronectina, collagene di tipo IV e perlecano (proteoglicano ricco di heparansolfato) sono le componenti maggiori della membrana basale. Lo stroma rappresenta il 90 per cento dello spessore corneale ed è principalmente costituito da cheratociti (sorta di fibroblasti), fibrille e lamelle di collagene e proteoglicani (aminoglicani legati a core proteici). Lo stroma è organizzato in 200-250 lamelle che, grossolanamente, lo rendono simile agli strati di una cipolla. Queste

lamelle decorrono da limbo a limbo e sono formate da fibrille di collagene interposte alla sostanza fondamentale ricca di proteoglicani. Le fibrille non hanno termine e vanno da limbo a limbo, ove si fondono con le fibrille della sclera. La loro direzione dà l'orientamento alle fibrille stromali. Le lamelle sono più obliquamente orientate nello stroma anteriore, mentre divengono più ortogonali nello stroma posteriore. I cheratociti sono rarefatti nello stroma, disposti tra le varie lamelle di collagene ma collegati fra di loro con lunghi bracci citoplasmatici, tanto da essere considerati un sincizio. Producono il collagene e la sostanza fondamentale dello stroma. Il collagene che costituisce lo stroma è principalmente di tipo I, ma sono presenti anche varie quantità di collagene di tipo III, V, VI, XII e XIV (Meek e Fullwood, 2001). I principali proteoglicani stromali sono lumicano, il cui glicosaminoglicano (GAG) è il keratansolfato (KS) ed il decorion, ricco di condroitinsolfato (CS) e dermatansolfato (DS). Il KS è distribuito un po' ubiquitariamente, ma ha maggior concentrazione nello stroma centrale e posteriore, mentre il CS è più distribuito anteriormente e perifericamente. Questa distribuzione associata alla spiccata idrofilia delle molecole dei GAG, sembra importante nella fisiopatologia di alcune malattie, quali degenerazione endoteliale, malattia endoteliale, la cui caratteristica clinica, oltre all'edema corneale, è la presenza di bolle sottoepiteliali. La causa sembra risiedere nel fatto che il KS ha capacità 2-3 volte maggiori del CS di attirare fluidi, mentre il CS ha capacità 8-9 volte superiori del KS di trattenerli (Samuelson, 1999). La trasparenza è una caratteristica fondamentale ed essenziale della cornea, che viene garantita da caratteristiche anatomiche, fisiologiche e immunitarie molto specializzate. La distribuzione delle fibrille di collagene deve rispondere ad una precisa struttura architettonica, illustrata dalle teorie di Maurice e Goldman (Goldman e Benedek, 1967; Goldman et al, 1968; Maurice, 1957 e 1970).



In particolare la distanza tra le varie fibrille di collagene (sottili e più o meno uniformi in diametro), non deve superare la metà della lunghezza d'onda delle onde elettromagnetiche nel campo visibile, altrimenti la rifrazione e il riflesso del raggio luminoso che attraversa la cornea verrebbero alterati. La cornea consente il passaggio di onde elettromagnetiche nel range approssimativo di 310-2500 nm (Arffa, 1991; Pepose e Ubels, 1992). Tale organizzazione del collagene stromale cambia nettamente nella sclera, in cui lo stroma corneale continua senza soluzione di continuo, ma la mancanza di tale organizzazione spaziale si traduce in mancanza di trasparenza. Oltre alle micro fibrille di collagene di tipo VI, associate alla sostanza fondamentale, che collegano le fibrille più grosse di collagene I e contribuiscono a mantenere la spaziatura (Cintron e Covington, 1990), importanza sempre maggiore stanno assumendo i proteoglicani corneali per la loro influenza sulla trasparenza corneale. Sono, infatti, particolari legami delle molecole di proteoglicani con le fibrille che consentono la loro specifica e regolare dimensione e spaziatura nello stroma. Il lumicano sembra avere importanza superiore agli altri proteoglicani nel mantenere la trasparenza corneale. Infatti, ceppi genetici di topi privi di lumicano hanno diffuso edema corneale, mentre topi deficienti in decorin non manifestano cornee opache (Meek e Boote, 2004). Quando altri aminoglicani vengono depositi o quando la loro quantità o rapporto varia, come nelle cicatrici stromali (dermatansolfato e heparansolfato), la cornea perde trasparenza. La *membrana di Descemet* rappresenta la lamina basale dell'endotelio e, a differenza della lamina basale epiteliale (che cresce impercettibilmente), aumenta visibilmente di spessore con l'età. Non ha proprietà elastiche, anche se il suo aspetto cupoliforme in alcuni descemetoceli (ulcere stromali a tutto spessore che rendono esposta la membrana) può far supporre diversamente. L'*endotelio corneale* è rappresentato da uno strato

monocellulare di cellule epiteliali. Tali cellule hanno forma esagonale e sono unite da giunzioni comunicanti (gap) e da giunzioni serrate localizzate (macula occludens). La sua funzione principale è quella di mantenere la cornea in uno stato costante di disidratazione, ma allo stesso tempo di consentire il passaggio di molecole nutritive dall'acqueo allo stroma. La sua permeabilità è resa possibile dall'assenza di giunzioni serrate circonferenziali e da un meccanismo attivo di membrana per il trasporto. La cornea viene mantenuta disidratata, grazie all'attività di una pompa dipendente dall'ATPasi situata lateralmente sulla parete cellulare e dall'integrità della membrana endoteliale nel trasporto ionico attivo. In sintesi, l'endotelio corneale, trasporta e rilascia ioni sodio e bicarbonato nell'umor acqueo e questo sistema di trasporto crea un gradiente osmotico, che bilancia la tendenza di edema da parte dello stroma. L'edema corneale non dipende solo dalla mancata attività dell'effetto "pompa ad energia", ma anche dal fatto che nel danno endoteliale viene persa la capacità di selezionare il trasporto ionico e si verifica, di conseguenza, accumulo di ioni a livello stromale. Le cellule endoteliali non hanno la capacità di duplicarsi nell'adulto e qualsiasi perdita cellulare viene compensata con aumento di superficie e diminuzione di spessore delle cellule viciniori. Le cellule endoteliali diminuiscono fisiologicamente con l'età. Tutte le patologie in grado di causare danno delle cellule endoteliali possono provocare edema persistente della cornea, che può essere più o meno distribuito o progressivo. Le degenerazioni endoteliali del boston terrier, il glaucoma e le reazioni vaccinali al CAV (adenovirus canino) sono patologie che possono causare edema corneale con questo meccanismo. La cornea va considerata un tessuto metabolicamente molto attivo e, poiché avascolare, completamente dipendente da fluidi e tessuti vicini per il supporto delle sostanze necessarie. Il metabolismo corneale dipende in massima parte

dall'ossigeno prelevato direttamente dal film lacrimale (ossigeno atmosferico) ed in minor parte dall'umor acqueo) e dalla vascolarizzazione limbare. Quando le palpebre sono chiuse durante il riposo, l'ossigeno disponibile viene ridotto, anche se in parte rifornito dall'abbondante vascolarizzazione palpebrale. La maggior parte delle necessità metaboliche di glucosio, aminoacidi, vitamine ed altre sostanze nutritive viene fornita dall'umor acqueo (90 %) e in quantità minore dal film lacrimale e dai vasi perilimbici (10 %). Il catabolismo glucidico è la sorgente principale per ottenere composti ad alta energia (ATP e NADPH) necessari per il mantenimento dei processi metabolici cellulari e della regolazione del volume corneale. Tale catabolismo avviene sia per via aerobica che anaerobica ed il ruolo relativo di queste vie non è stato ben determinato, anche se la via aerobica è preponderante. L'innervazione corneale è sostenuta dalla branca somatica oftalmica del V nervo cranico e in misura modesta da fibre simpatiche e forse parasimpatiche (Marfurt et al, 1998). Le fibre nervose entrano in maniera radiale al limbo con un plesso epiteliale e con 14-18 fibre più grosse stromali. Al limbo talvolta queste fibre sono visibili con esame a lampada a fessura appena penetrano nella cornea. Le fibre si dividono numerose volte in maniera dicotomica e si distribuiscono fittamente allo stroma anteriore e dell'epitelio. Oltre ad avere funzione afferente per la sensazione corneale, le fibre nervose rilasciano neuropeptidi (principalmente sostanza P e peptide correlato al gene della calcitonina – CGRP) a effetto neuromodulatore sulla fisiologia dell'epitelio corneale, sulla proliferazione, differenziazione, migrazione ed adesione cellulare e sono fondamentali non solo per una corretta fisiologia ma anche per la guarigione epiteliale. La mancanza di una normale attività neurotrofica porta alla formazione di difetti ulcerativi o degenerativi corneali. Lo stroma posteriore ha invece scarsa innervazione (Garcia-Hirschfeld et al, 1994; Marfurt et al, 2001). La sensazione

corneale nel cane è maggiore al centro che alla periferia, con la porzione ventrale della cornea che risulta meno sensibile. Inoltre, la sensazione corneale è più sviluppata nei cani dolicocefali rispetto a quelli mesocefali, con i brachicefali che dimostrano circa la metà della sensibilità rispetto ai dolicocefali (Barrette et al, 1991). Anche nel gatto la sensazione corneale è maggiore al centro che non alla periferia, con la cornea dorsale e ventrale che si dimostra meno sensibile. Gatti brachicefali (himalaiano e persiano) hanno sensibilità corneale diminuita rispetto a gatti domestici comuni (Blocker e Van der Woerd, 2001). Anche nel gatto le fibre nervose provengono dai nervi ciliari posteriori lunghi, penetrano la cornea radialmente dal limbo con 16- 20 tronchi principali e si dividono dicotomicamente, per distribuirsi all'epitelio e allo stroma anteriore (Chan-Ling, 1989). Nei soggetti diabetici, a causa di neuropatia associata alla malattia sistemica, si osserva diminuita sensibilità della cornea (Daubs, 1975; Good et al 2003) e la neuropatia predispone talvolta a guarigione rallentata o a maggior tendenza a sviluppare lesioni erosive (Rosenberg et al, 2000; Saini e Khandalavia, 1995).

## 1.2 RISPOSTE CORNEALI ALLA MALATTIA

La cornea rappresenta una struttura complessa in cui è necessario l'equilibrio di molte componenti anatomiche e fisiologiche. Alterazioni anatomiche dirette o indirette e la perdita delle caratteristiche fisiologiche precedentemente descritte produrranno cambiamenti patologici corneali che sono di solito rappresentati da:

- edema
- presenza di vasi neoformati, con conseguente possibile infiltrato cellulare
- fibrosi, cicatrizzazione,

- pigmentazione
- perdita di sostanza

L'edema corneale è causato dalla ritenzione di fluidi a livello stromale e questa capacità è resa possibile dall'alta idrofilia degli aminoglicani. Alterati meccanismi endoteliali ed epiteliali sono alla base dell'edema corneale. Sperimentalmente, una cornea privata dell'epitelio aumenta lo spessore del 200 % dopo 24 ore, mentre quando è l'endotelio a mancare, lo spessore può aumentare anche del 500 %. Una cornea normale tollera variazioni di pressione intraoculare in un intervallo ampio. La cornea umana ha pressione di edema stromale (stromal swelling pressure) di 55 mmHg; ciò significa che lo spessore corneale non varia fino a pressioni intraoculari di circa 50 mm Hg, al di sopra delle quali si inizia ad avere edema corneale (Edelhauser e Ubels, 2003). Pressioni inferiori sono in grado di provocare edema corneale, quando sussistono difetti endoteliali. Gelatt (1999) riporta che la soglia per la decompensazione delle cellule endoteliali nei cani affetti da glaucoma e per l'insorgenza dell'edema corneale è invece attorno ai 40 mm hg. Se la trasparenza e il potere diottrico della cornea possono essere anatomicamente e strutturalmente ritenuti funzioni dello stroma, pur tuttavia composizione e funzione del film lacrimale, dell'epitelio corneale e dell'endotelio corneale hanno influenza essenziale sul mantenimento di questo stato. Qualunque alterazione quantitativa e qualitativa di questi strati cellulari e fluidi si ripercuoterà sulla fisiologia corneale e malattie che influiscano sulla normale composizione del film lacrimale o dell'acqueo sono spesso causa di cambiamenti secondari della cornea. Le palpebre stesse possono avere influenza meccanica sulla superficie corneale e ugualmente essere causa di cambiamenti secondari. Entropion, distichiasi, ciglia ectopiche, trichiasi, agenesie palpebrali, lagofalmo e malformazioni della fessura

sono alcune fra le cause di cheratiti/cheratopatie acute o croniche. E' importante quindi, nella valutazione di cambiamenti corneali, stabilire l'influenza che altre strutture possono avere sulla fisiologia corneale, per classificare i cambiamenti corneali come primari o secondari ad altre patologie intraoculari od annessiali. La trasparenza corneale è fisicamente possibile anche per l'assenza di vascolarizzazione. Sebbene la neovascolarizzazione di tessuti costituisca un processo biologico essenziale per la guarigione, ci sono circostanze in cui la sua presenza o la sua permanenza possono costituire una conseguenza indesiderata. Nella cornea, la crescita vascolare può essere associata a fibrosi e cicatrizzazione, edema, deposizione di sostanze lipidiche e, come conseguenza ultima, a visione diminuita. L'assenza di vasi è regolata da un sottile equilibrio tra sostanze angiogeniche (primariamente fattore basale di crescita fibroblastica bFGF (Yang et al, 2000) e fattore di crescita endoteliale vascolare VEGF (Gan et al, 2004) ) e sostanze antiangiogeniche (primariamente angiostatina, endostatina e fattore derivato dall'epitelio pigmentato PEDF) tutti normalmente presenti nella cornea (Chang et al, 2001). La formazione di nuovi vasi nella cornea dipende dalla sovraregolazione dei primi e dalla contemporanea sottoregolazione dei secondi. Malattie infettive, traumi, fenomeni immunomediati e deficit lacrimali possono rappresentare uno stimolo alla neovascolarizzazione. La risposta iniziale della cornea a traumi o infezioni è il rilascio di citochine e chemochine proinfiammatorie che richiamano granulociti neutrofili polimorfonucleati (PMNs), i quali sono in grado di facilitare ulteriormente la neoformazione vascolare (Yasuda et al, 2000). I PMNs hanno facile e rapido accesso alla cornea, in quanto veicolati dal film lacrimale e in grado di migrare dal limbo lungo gli spazi virtuali tra le lamelle di collagene stromale. I vasi che partecipano nel processo di neovascolarizzazione corneale sono arterie ciliari anteriori

(che derivano dalle arterie posteriori ciliari lunghe), più profondamente, e vasi arteriosi congiuntivali (derivazione delle arterie palpebrali superiori e inferiori e delle arterie malari), più superficialmente. In rapporto alla localizzazione della lesione e alla quantità di spessore corneale coinvolto si possono notare in senso lato due tipi di neoformazione vascolare. Una vascolarizzazione più superficiale si manifesta con vasi che derivano dalla congiuntiva e il cui percorso può essere facilmente visibile attraversare il limbo e dividersi poi dicotomicamente in arborizzazioni sempre più sottili con andamento irregolare e tortuoso sulla superficie corneale. Questi vasi sono frequenti in corso di lesioni erosive o ulcerative superficiali. In corso di malattie del film lacrimale o da esposizione, in associazione con lesioni palpebrali e congiuntivali. Una vascolarizzazione corneale profonda implica malattie intraoculari o danni corneali più gravi (per esempio uveiti, cheratiti interstiziali, processi ulcerativi profondi) e si manifesta con intensa vascolarizzazione ad origine dal limbo, senza prosecuzione visibile sulla superficie congiuntivale, e composta da vasi sottili, rettilinei e paralleli, molto ravvicinati e spesso sovrapposti a formare un vero e proprio tessuto vascolare denso. Spesso comunque tali quadri non sono entità separate e sono riscontrabili contemporaneamente nella stessa lesione, come espressione di coinvolgimento più diffuso.

### 1.3 GUARIGIONE CORNEALE

La guarigione di difetti epiteliali superficiali avviene tramite divisione e migrazione cellulare a coprire il difetto. Solo le cellule epiteliali basali hanno capacità mitotica e le cellule staminali limbari consentono proliferazioni e migrazioni dello strato basale in senso centripeto. Fattori proteici di crescita controllano gli eventi cellulari della guarigione: il fattore di crescita insulinico (IGF), il fattore di crescita epiteliale (EGF), il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF), il fattore di crescita della

trasformazione  $\alpha$  (TGF-  $\alpha$ ) e il fattore di crescita neuronale (NGF) sembrano avere effetti stimolanti la guarigione corneale (Swank e Hosgood, 1996; Woo et al 2005). Il fattore di crescita della trasformazione-  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ), invece, ha effetti stimolanti positivi sullo stroma, ma diminuisce la proliferazione epiteliale. Assieme a queste citochine, metallo proteinasi (MMP-2 e 9), actina, fibronectina, sostanza P, CGRP (calcitonin- Gene-Related Peptide) e caderine sono ulteriore espressione di proteine specifiche, che contribuiscono al rimodellamento, al reclutamento di componenti cellulari infiammatorie ed al movimento delle cellule epiteliali. Un equilibrio tra le loro espressioni è delicato e determinante per la guarigione: infatti, il difetto o la sovraespressione di uno o più di questi fattori può risultare nella patologia delle erosioni ricorrenti. In condizioni sperimentali, nella cornea normale di coniglio, un difetto epiteliale di 6 mm guarisce in circa 48 ore (Edelhauser e Ubels, 2003). Se il difetto epiteliale interessa la membrana basale, l'epitelio neoformato necessita di circa 12 mesi per riformarla. In questo lasso di tempo, l'adesione epiteliale allo stroma va considerata meno efficace (Gipson et al, 1989). Difetti corneali più profondi, che interessino oltre l'epitelio anche lo stroma anteriore guariscono con meccanismi diversi. Se la lesione stromale è limitata, la guarigione avviene con meccanismi simili a difetti epiteliali con l'epitelio che copre il difetto stromale e si ispessisce per riempire la depressione e mancanza di sostanza. Talvolta rimangono piccole indentazioni (faccette corneali), perché la perdita di spessore non viene più ripristinata sufficientemente. Difetti stromali più estesi prevedono una guarigione, con trasformazione dei cheratociti vicini al sito di lesione in miofibroblasti caratterizzati dalla produzione di filamenti di actina, che causa la contrazione della ferita, dalla produzione di proteoglicani normalmente assenti dalla cornea, dalla produzione di proporzioni alterate di proteoglicani corneali e dalla produzione di collagene tipo III. Il TGF-beta,



favorisce questa differenziazione cellulare dei cheratociti. Questo tipo di risposta è efficace per la riparazione del tessuto lesa, ma produce una cicatrice opaca (Berryhill et al, 2003). Il collagene prodotto ex novo sarà di tipo III, con diminuzione di keratansolfato ed aumento di dermatansolfato (un aminoglicano normalmente presente in quantità minore nella cornea), e la sua organizzazione fibrillare non corrisponderà a quella spaziale del collagene di tipo I, causando opacità più o meno sostanziali (Edhelauser e Ubels, 2003). Sulla cicatrizzazione influiscono inoltre anche l'ammontare del processo infiammatorio e l'entità dell'invasione neovascolare, che danno origine a un vero e proprio tessuto di granulazione, la cui formazione è attesa in molti processi ulcerativi come segnale di guarigione, ma la cui esuberanza a volte va controllata con steroidi/ciclosporina/tacrolimus per diminuire i leucomi cicatriziali che seguono tale tessuto di granulazione. Con leucoma si intendono fenomeni cicatriziali della cornea, che causano opacità più o meno dense. La macula corneale è invece un'opacità localizzata, anche colorata, ben definita. Talvolta, viene usata anche per descrivere leucomi discreti. La nubecola corneale è infine un'opacità lieve, non discreta, né a margini specifici (il termine richiama la definizione astronomica da cui deriva). Può essere applicato alle distrofie lipidiche. Di solito si usa per le opacità a derivazione non cicatriziale.

#### 1.4 ASPETTI CLINICI DELLA CHERATOCONGIUNTIVITE EOSINOFILICA

La cheratocongiuntivite eosinofila o cheratocongiuntivite proliferativa è una cheratopatia cronica proliferativa del gatto causata da una sospetta risposta immunomediata a uno stimolo antigenico sconosciuto, la cui caratteristica principale è il processo di granulazione a livello corneale. Si tratta di una lesione infiammatoria infiltrativa e progressiva la cui presentazione clinica è piuttosto variabile, rappresentata in genere da una

placca proliferativa da bianca a rosa, di aspetto simil caseoso irregolare e vascolarizzata, che più comunemente origina dal limbo nasale o temporale, dalle porzioni periferiche della cornea o dall'adiacente congiuntiva bulbare. La patologia sembra non avere predisposizione di sesso, razza o età ed è più spesso monolaterale (Paulsen et al., 1987). Le lesioni in fase iniziale sono indolori, ma blefarospasmo e disagio oculare tendono ad essere più pronunciati col progredire della proliferazione (Morgan et al., 1996). In alcuni casi vi è una riduzione del film lacrimale. Talvolta l'epitelio è danneggiato dalla crescita di tessuto infiammatorio e ci possono essere aree di positività alla fluoresceina. In caso di coinvolgimento palpebrale, si ritengono altresì patognomoniche lesioni infiltrative del bordo palpebrale, con leucodermia del margine palpebrale, di solito regolarmente pigmentato. In caso di lesioni centrali della cornea, esiste sempre una vascolarizzazione superficiale che collega le lesioni al limbo. Sono stati descritti casi di congiuntivite eosinofila non associata a cheratite (Allgoewer et al., 2001). Questi ultimi si manifestavano con chemosi, depigmentazione ed erosione del margine palpebrale inferiore. Altri segni clinici frequenti erano chemosi ed iperemia della congiuntiva e della terza palpebra, così come scolo mucoso o muco purulento dall'occhio affetto. La congiuntivite eosinofila è caratterizzata da un profondo infiltrato eosinofilo della congiuntiva che può essere riscontrato facilmente tramite raschiato congiuntivale. L'esame citologico dei depositi corneali, così come quello dei raschiati congiuntivali, rivela una predominanza di eosinofili, alcuni neutrofili, epitelio non cheratinizzato e linfociti. Raschiati più profondi e sezioni istologiche spesso rivelano in maniera predominante plasmacellule e linfociti, con mastociti, eosinofili e macrofagi presenti in numero ridotto. In alcuni casi il raschiato è privo di eosinofili. Alcuni autori hanno proposto che vi possa essere una patogenesi differente e hanno usato il termine cheratite proliferativa. Altri suggeriscono che gli eosinofili possano essere

transitori e quindi questo è un differente stadio dello stesso processo. A livello istologico, le lesioni sono caratterizzate da epitelio ipertrofico ed iperplastico che, di solito, ricopre la lesione. Alcune aree ulcerate appaiono ricoperte di materiale eosinofilo amorfo. Lo stroma mostra la presenza di infiltrato eosinofilo, linfocitico e plasmacellulare con numerosi macrofagi e neutrofili che, a seconda della gravità, può coinvolgere parte o tutto lo spessore. Frequenti sono pure i mastociti. La presenza di vasi neoformati è frequente (Prasse e Winston, 1996). Non ci sono predisposizioni di razza, sesso o età. Le possibili diagnosi differenziali per la cheratocongiuntivite eosinofila sono la cheratite erpetica, la cheratomicosi, la granulazione corneale in seguito a guarigione di un'ulcera e neoplasia corneale.

## 1.5 EZIOLOGIA

L'eziologia della cheratocongiuntivite eosinofila è sconosciuta. Nonostante i simili riscontri istopatologici con il complesso del granuloma eosinofilo, sinora non è stata riscontrata una relazione tra quest'ultimo e la cheratocongiuntivite eosinofila. Manifestazioni cliniche cutanee o enteriche di complesso eosinofilo associate a lesioni oculari non sono comuni, ma possibili (Morgan et al., 1996). E' generalmente accettato che i gatti producono una risposta esagerata a certi stimoli allergici cronici, come evidenziato da un abbondante infiltrato di cellule infiammatorie, incluse plasmacellule, linfociti, mastociti, eosinofili e macrofagi nell'area dello stimolo. Sono state infatti proposte, come cause eziopatogenetiche della malattia, reazioni da ipersensibilità di tipo I e IV (Prasse & Winston, 1996). E' possibile rinvenire eosinofilia ematica, ma in molti casi essa non è presente. Si ritiene, inoltre, che vi possa essere una correlazione con alcune malattie infettive, ma nessun agente è mai stato isolato. Ci sono comunque frequenti associazioni tra FHV-1 e, in uno studio seguito su 59 casi, il 76,3% di essi risultò positivo alla PCR per herpes virus felino, ma

dal momento che il test non è completamente affidabile e che una reazione infiammatoria potrebbe comunque riattivare virus latenti, non è chiaro se questo tasso di positività riflettesse una coincidenza, una causa o una conseguenza (Naisse et al., 1998). Alla luce di una recente scoperta di un nuovo agente appartenente al genere delle Chlamydie, *M. hartmanellae*, in gatti con congiuntivite e cheratite accompagnati da un infiltrato eosinofilico infiammatorio (Von Bombarde et al., 2003) la valutazione del beneficio di una terapia topica o sistemica con tetracicline o doxiciclina può essere giustificata.

## 1.6 DIAGNOSI

La diagnosi si basa sull'aspetto clinico, ma è facile confermarla con un semplice raschiato citologico corneale e congiuntivale. La presenza di numerosi eosinofili è ovvia e il background del preparato, inoltre, è riempito da numerosissimi granuli dispersi sia da eosinofili sia da mastociti. Per questa ragione, è opportuno usare sempre vetrini estremamente puliti e sgrassati, in maniera da non confondere il background granulare con detriti di sporco. Colorazioni rapide, tipo Diff Quick, sono sufficienti per la diagnosi.

## 1.7 TERAPIA

Molti casi di cheratite eosinofilica rispondono alla terapia topica con desametasone in collirio (0,1 %) o prednisolone acetato 1 %. Il trattamento può cominciare con una frequenza di 3-4 applicazioni giornaliere in base alla gravità del quadro clinico. Non appena la sintomatologia migliora il dosaggio viene ridotto gradualmente sino a trovare la dose di mantenimento richiesta per controllare la malattia. Alcuni gatti possono essere ben mantenuti con corticosteroidi topici una o due volte alla settimana. Anche l'uso topico di ciclosporina è stato riportato come

efficace nel controllo della patologia in alcuni gatti (Spiess et al., 2009). La ciclosporina in soluzione topica all'1,5 % è un valido trattamento alternativo all'uso di corticosteroidi topici nella maggior parte dei casi. Le recidive sono state correlate alla scarsa compliance dei proprietari. La ciclosporina viene applicata localmente da due a tre volte al giorno, poi si riduce la somministrazione del farmaco fino ad ottenere il dosaggio più basso efficace atto a prevenire la progressione delle lesioni e la comparsa di recidive. Ancora una volta, l'obiettivo del trattamento con ciclosporina è controllare la progressione delle lesioni piuttosto che determinare una vera e propria guarigione. Riconosciute le somiglianze tra i rinvenimenti istologici della cheratite eosinofila e il complesso del granuloma eosinofilo, Brightman et. al. (1979) hanno utilizzato il megestrolo acetato (MA) per il trattamento di questa patologia. Negli ultimi anni, tuttavia, gli effetti collaterali della terapia con megestrolo acetato hanno ricevuto l'attenzione della letteratura veterinaria. Questi includono aumento dell'appetito e del peso, alterazioni nel comportamento, iperplasia mammaria, soppressione adrenocorticale e diabete mellito. Di conseguenza, alcuni autori consigliano l'uso del megestrolo acetato solo in casi refrattari alla terapia topica antinfiammatoria, mentre altri ne suggeriscono l'uso a dosaggi più bassi e in combinazione con la terapia steroidea topica. La dose orale di partenza è di 5mg al giorno per 5 giorni, poi 5 mg a giorni alterni per 7 giorni, seguiti da 5 mg a settimana come dose di mantenimento. In concomitanza si può usare uno steroide topico come il desametasone due volte al giorno. In alcuni casi se la risposta è soddisfacente, si cerca di sospendere il megestrolo acetato, dopo due o tre mesi, e usare i farmaci topici di mantenimento. L'uso del MA andrebbe riservato solo per il trattamento di lesioni acute e per periodi limitati. L'alternativa è usare prednisone orale, alla dose di 2-4 mg/kg al giorno con progressiva diminuzione e rarefazione delle dosi. Iniezioni di

metilprednisolone acetato, alle dosi di 20mg/gatto/2-4 settimane, possono rappresentare un'alternativa parenterale, ma hanno anch'esse le stesse controindicazioni del MA. Trattamenti topici con steroidi (desametasone) e ciclosporina sono consigliati. La prognosi segue le prospettive del granuloma eosinofilo felino con casi che vengono curati, altri che recidivano e casi che rispondono relativamente. E' consigliato l'applicazione prima della terapia di farmaci antivirali, per evitare una riattivazione latente dell'herpesvirus felino.

## 2. CASISTICA PERSONALE

### 2.1 INTRODUZIONE

L'obiettivo di questa tesi è stato valutare gli aspetti clinico-patologici della cheratocongiuntivite eosinofilica, il ruolo della citologia nella diagnosi della malattia e la risposta al trattamento somministrato.

### 2.2 MATERIALI E METODI

Per il nostro studio sono stati esaminati 15 gatti portati a visita all'Ospedale Didattico Veterinario dell'Università di Pisa tra luglio 2009 e marzo 2015. I gatti erano tutti europei con un'età compresa tra i 3 e 16 anni, appartenenti ad entrambi i sessi. I gatti sono stati esaminati mediante reazione alla minaccia, valutazione del riflesso palpebrale, valutazione del riflesso corneale, PLR diretto e consensuale, riflesso di abbagliamento. La cornea, la camera anteriore, l'iride, la lente e il vitreo sono stati valutati con lampada a fessura. Il fondo oculare, invece, è stato osservato tramite oftalmoscopia indiretta, quando possibile. La diagnosi è stata presuntiva in alcuni casi, in base all'aspetto clinico caratteristico e alla risposta terapeutica mentre in 7 casi la diagnosi è stata certa e formulata grazie all'ausilio dell'esame citologico congiuntivale e corneale. I campioni per la citologia sono stati raccolti mediante cytobrush dal fornice congiuntivale inferiore e dalla cornea, e colorati mediante colorazione rapida di tipo Diff-Quik. La terapia somministrata consisteva i primi 7 giorni in Idoxuridina topica q2h o ganciclovir topico q4h, in associazione con doxiciclina per os 10 mg/kg q24. All'ottavo giorno è stata inserita la ciclosporina 0.2% topica q12h in associazione agli antivirali topici e alla doxiciclina per os. Dopo due settimane la terapia è stata continuata solo con ciclosporina topica, in caso di evidente miglioramento, altrimenti è stato inserito il desametasone

0.2% topico q6h in associazione. La terapia è stata poi scalata fino ad ottenere la dose minima efficace che tenesse sotto controllo la patologia.

## 2.3 CASI CLINICI

### *CASO CLINICO 1*

Gatto europeo FS di 14 anni

Il paziente ha manifestato una cheratite eosinofila tre anni prima, migliorata con una terapia non specificata però dal proprietario. Alla visita clinica si riscontrava a sinistra, iperemia congiuntivale, chemosi, e una cheratite moderata con neovascolarizzazione. A destra, invece, si evidenziavano gli esiti di una cheratite, midriasi parziale, atrofia iridea e nucleosclerosi. All'esame del fondo oculare erano presenti aree degenerative, con piccoli focolai di sospetto distacco bolloso. Veniva prescritto ganciclovir topico q4h e doxiciclina per os in attesa dell'esame citologico e venivano consigliati esami per la funzionalità renale per sospetta retinopatia ipertensiva. La citologia congiuntivale evidenziava la presenza di una popolazione infiammatoria costituita per il 70 % da eosinofili, per il 20 % da neutrofili, per circa il 10 % da piccoli linfociti e rari mastociti. Era inoltre presente una popolazione di cellule in clusters pavimentosi con elevato rapporto N/C, nucleolo prominente, assenza di anisocariosi; una popolazione in clusters a palizzata con nucleo polare, basso rapporto N/C, priva di anisocariosi ed una popolazione in clusters pavimentosi, con cellule di grandi dimensioni, nucleo picnotico e vacuolizzato. Era inoltre presente materiale amorfo eosinofilo in aggregati. Il quadro citologico era compatibile con una flogosi mista prevalentemente eosinofila associata ad una lieve displasia epiteliale. A sette giorni dall'inizio della terapia veniva aggiunta la ciclosporina 0.2% topica q12h. Il follow up a due settimane evidenziava un miglioramento



all'occhio sinistro, mentre la situazione era rimasta stazionaria a destra. Dopo alcuni controlli successivi nei quali è stato possibile evidenziare un progressivo miglioramento, il soggetto è stato perso al follow up.

### *CASO CLINICO 2*

Gatto europeo MC 4 anni

Il paziente presentava all'occhio sinistro blefarospasmo e depositi corneali biancastri a livello dorsale compatibili con cheratite eosinofila. L'esame citologico non è stato effettuato perché i proprietari lo hanno rifiutato per motivi economici. Veniva prescritto ganciclovir topico q4h e doxiciclina per os e dopo una settimana si inseriva ciclosporina 0.2% topica q12h. Ad un mese dalla terapia si osservava un miglioramento, ma era ancora presente una cheratite perilimbare dorso-mediale. Quindi si decideva di continuare con la ciclosporina 0.2% topica q12h in associazione al desametasone 0.2% topico q6h. A due mesi dall'inizio della terapia si osservava una remissione completa della sintomatologia. Si decideva di continuare con ciclosporina 0.2% topica q24h e desametasone 0.2% a giorni alterni per due mesi per poi passare alla sola ciclosporina 4 volte a settimana a giorni non consecutivi per otto mesi sino alla sospensione della terapia. Durante la fase di mantenimento della terapia il soggetto è stato perso al follow up.

### *CASO CLINICO 3*

Gatto europeo MC di 4 anni

Il gatto veniva portato a visita per un'opacizzazione corneale all'occhio destro, trattata in precedenza con piroxicam topico, tobramicina 0,3 % topica e acetilcisteina 5 % topica. La visita clinica evidenziava all'occhio destro iperemia congiuntivale e depositi corneali biancastri estesi a tutta la

superficie corneale. L'occhio sinistro invece presentava una lieve iperemia sclerale a livello del canto laterale e depositi corneali a livello di canto laterale, perilimbari. In attesa del risultato dell'esame citologico veniva somministrata Idoxuridina topica q2h e doxiclina per os. Successivamente, la citologia esfoliativa corneale mostrava una popolazione infiammatoria mista con significativa presenza di granulociti eosinofili, cellule epiteliali squamose, talvolta pigmentate con lieve asincronismo maturativo. La citologia aveva quindi confermato una flogosi eosinofilica associata ad iperplasia epiteliale. Ad una settimana dall'inizio della terapia si osservava un miglioramento sia a destra, con aree di cornea parzialmente libere da cheratite, sia a sinistra, nonostante non fossero stati ancora inseriti gli immunomodulatori. Si decideva comunque di prescrivere ciclosporina 0.2% topica q12h. Il soggetto è stato perso al follow up.

#### *CASO CLINICO 4*

Gatto europeo FS di 7 anni

Il paziente è stato portato a visita perché i proprietari avevano notato una patina sulla cornea presente da circa 6 mesi. L'esame clinico ha evidenziato all'occhio sinistro una cheratite con neovascolarizzazione dorsale, iperemia congiuntivale e depigmentazione del margine libero della terza palpebra. In attesa dell'esame citologico veniva prescritto ganciclovir topico q4h e doxicicilna per os. L'esame citologico evidenziava successivamente clusters pavimentosi di cellule epiteliali con pigmentazione, con moderata anisocariosi, associati a numerosi mastociti ben differenziati, talvolta anche a piccoli gruppi, diversi granulociti neutrofili e rari eosinofili. Il quadro citologico era quindi compatibile con una flogosi neutrofilica-eosinofilica con significativa componente mastocitaria. Dopo 9 giorni di terapia si otteneva un miglioramento della congiuntivite e un lieve miglioramento della cheratite. Si decideva di proseguire con il ganciclovir topico q4h in

associazione alla ciclosporina 0.2% topica q12h. I proprietari sono stati informati della necessità di introdurre anche il desametasone 0,2 % topico in caso di insuccesso della ciclosporina. Dopo il primo controllo il soggetto è stato perso al follow up.

#### *CASO CLINICO 5*

Gatto europeo MC di 7 anni

Il paziente veniva portato a visita per lieve blefarospasmo all'occhio sinistro, neovascolarizzazione e presenza di depositi biancastri corneali a sede ventrale comparsi da due mesi. Si decideva di somministrare Idoxuridina topica q2h e doxiciclina per os e dopo una settimana si introduceva ciclosporina 0.2% topica q12h. L'esame citologico mostrava cellule poligonali in clusters pavimentosi, cellule squamose tendenzialmente isolate, cellule squamose contenenti pigmento granulare intracitoplasmatico, talvolta vacuolizzazioni. L'anisocariosi era moderata, spesso il nucleolo appariva prominente. Erano presenti pochi neutrofili non degenerati ed eosinofili. Il quadro citologico era compatibile con una lieve flogosi neutrofilica-eosinofilica associata a moderata displasia epiteliale. Il paziente è stato perso al follow up dopo la prima visita e quindi non è stato possibile prescrivere farmaci immunomodulatori topici.

#### *CASO CLINICO 6*

Gatto europeo MC di 3 anni

Il paziente veniva portato a visita per una congiuntivite e infiltrazione corneale laterale all'occhio sinistro. Si decideva di prescrivere ganciclovir topico q4h e doxiciclina per os e di inserire dopo 7 giorni la ciclosporina 0,2 % topica q12h. L'esame citologico non veniva effettuato perché i proprietari lo hanno rifiutato per motivi economici. Dopo un mese di

terapia si riscontrava un miglioramento ma la cheratite era ancora presente. Intanto, a destra, apparivano piccoli depositi perilimbari laterali. Il test FIV-FELV eseguito con metodica ELISA risultava negativo. A questo punto veniva inserito in terapia anche il desametasone 0,2 % topico in associazione alla ciclosporina e sospeso il ganciclovir topico. Il follow up a due mesi evidenziava una completa regressione della cheratite sia a destra sia a sinistra, residuava solo una lieve iperemia degli annessi a sinistra. Si decideva di continuare con ciclosporina 0,2 % topica 4 volte a settimana a giorni non consecutivi e desametasone 0,2 % topico q24h sino al controllo successivo fissato ad un mese di distanza. Il soggetto è stato perso al follow up.

#### *CASO CLINICO 7*

Gatto europeo MC 16 anni

Il paziente veniva portato a visita per una congiuntivite cronica presente da tre mesi e trattata con antibiotici locali senza miglioramento. L'esame clinico evidenziava a sinistra lieve enoftalmo, cheratopatia con neovascolarizzazione, cheratopatia lipidica, erosione corneale, iperemia e lieve chemosi congiuntivale. Si procedeva con la somministrazione di ganciclovir q4h e doxiciclina per os e si consigliava una rivalutazione a sette giorni per l'eventuale applicazione di una lente a contatto. Si procedeva inoltre all'esecuzione di un esame citologico corneo-congiuntivale che evidenziava la presenza di una popolazione cellulare mista. Le cellule infiammatorie erano costituite prevalentemente da eosinofili e da pochi neutrofili. La popolazione non infiammatoria era costituita prevalentemente da cellule poligonali in clusters pavimentosi e singole, con citoplasma basofilo, lieve anisocariosi, talvolta con pigmento verdastro intracitoplasmatico. Erano presenti pochi clusters a palizzata di cellule con nucleo polare e rare cellule mucipare. Il quadro citologico era

compatibile con una flogosi eosinofilica associata a lieve displasia epiteliale. Dopo sette giorni di terapia si osservava già un miglioramento e si decideva quindi di inserire la ciclosporina 0,2 % topica q12h sino al controllo successivo. Dopo un mese si osservava un notevole miglioramento e si prescriveva ciclosporina 0.2% topica q24h. Successivamente il soggetto è stato perso al follow up.

### *CASO CLINICO 8*

Gatto europeo MC 17 anni

Il paziente veniva portato a visita per blefarospasmo presente da pochi giorni. Alla visita clinica si rilevava edema e iperemia congiuntivale all'occhio sinistro, la cornea appariva normale. Si prescriveva ganciclovir topico q4h e doxiciclina per os in attesa dell'esame citologico che evidenziava, successivamente, la presenza di una popolazione cellulare mista. La popolazione non infiammatoria era costituita prevalentemente da cellule poligonali in clusters pavimentosi e singole, con citoplasma basofilo, lieve anisocariosi, talvolta con pigmento verdastro intracitoplasmatico. Le cellule infiammatorie erano costituite prevalentemente da eosinofili e da pochi neutrofili. I mastociti erano occasionali. Erano inoltre presenti rari clusters a palizzata di cellule con nucleo polare e rare cellule mucipare. Il quadro citologico era compatibile con iperplasia/displasia congiuntivale associata a flogosi eosinofilica. Al paziente è stata prescritta ciclosporina 0.2% topica q 12h e dopo un mese si è osservato un notevole miglioramento. È stato prescritto mantenimento con ciclosporina topica 0.2% topico q24 e il paziente è stato successivamente perso al follow up.

### *CASO CLINICO 9*

Gatto europeo MC 11 anni

Il paziente veniva portato a visita per una congiuntivite cronica all'occhio destro trattata con robenacoxib e amoxicillina-clavulanico per via orale in aggiunta all'ofloxacina topica senza miglioramento. L'esame oftalmico evidenziava a destra una congiuntivite con chemosi moderata, muco e placche biancastre sulla congiuntiva. Si rilevavano, inoltre, lievi aree di opacità corneali paracentrali, atrofia iridea e nucleosclerosi. A sinistra presentava atrofia iridea, nucleosclerosi e all'esame del fondo si evidenzia un'emorragia intraretinica, per la quale è stata consigliata una valutazione della funzionalità renale. Veniva prescritto ganciclovir q4h e doxiciclina per os in attesa dell'esame citologico che successivamente evidenziava la presenza di una popolazione mista. Le cellule infiammatorie erano costituite prevalentemente da eosinofili e da pochi mastociti. La popolazione non infiammatoria era costituita prevalentemente da cellule poligonali in clusters pavimentosi e singole, con citoplasma basofilo, lieve anisocariosi, talvolta con pigmento verdastro intracitoplasmatico. Erano inoltre presenti pochi clusters a palizzata di cellule con nucleo polare e rare cellule mucipare. Rare le cellule multinucleate. Il quadro citologico era compatibile con una flogosi eosinofilica associata a iperplasia epiteliale. Dopo una settimana di terapia veniva aggiunta ciclosporina 0,2 % topica q12h e successivamente desametasone colirio q6h. Il follow up a 40 giorni evidenziava chemosi degli annessi e una lieve cheratite dorso mediale. Durante il follow up a 50 giorni la congiuntiva appariva chemotica con presenza di placche biancastre, a livello corneale in sede mediale dorsale era presente un'area di escavazione circondata da neovascolarizzazione. Veniva quindi prescritta ofloxacina topica q6h in associazione alla doxiciclina per os, continuata la ciclosporina topica e sospeso il desametasone topico. Follow up a 4 mesi: lieve blefarospasmo con chemosi congiuntivale all'occhio destro. Si decideva di somministrare la ciclosporina topica all'1 % da sostituire alla ciclosporina 0.2 % topica. Il

follow up a 6 mesi evidenziava una recidiva della cheratongiuntivite eosinofila, con chemosi e infiltrazione congiuntivale, infiltrazione mediale corneale. Veniva quindi ripetuto l'esame citologico che evidenziava un'abbondante popolazione di cellule infiammatorie costituite per l'80 % da granulociti eosinofili; erano inoltre presenti anche alcuni neutrofili, linfociti reattivi e cellule epiteliali con moderata anisocariosi. La diagnosi citologica riconfermava un quadro suggestivo di flogosi eosinofila associata a iperplasia epiteliale reattiva. A questo punto si suggeriva di somministrare corticosteroidi per via orale in associazione alla ciclosporina 0.2 %, l'ofloxacina e ganciclovir topici. Follow up a sette mesi: presente lieve chemosi congiuntivale, area dorso mediale infiltrata. L'area di infiltrazione permaneva nonostante la terapia. Il gatto è deceduto dopo poche settimane dall'ultimo controllo oculistico per una cardiopatia.

#### *CASO CLINICO 10*

Gatto europeo FS di 3 anni

Il paziente veniva portato a visita perché all'occhio sinistro era comparsa un'area opaca sulla cornea, ad insorgenza acuta. La visita clinica evidenziava edema corneale laterale con depositi biancastri e neovascolarizzazione. L'esame citologico non veniva effettuato perché il proprietario lo aveva rifiutato per motivi economici. Veniva prescritta Idoxuridina topica q2h e doxiciclina per os e dopo una settimana si consigliava di inserire nel protocollo terapeutico la ciclosporina 0,2 % topica q12h. Dopo la prima visita il soggetto è stato perso al follow up.

#### *CASO CLINICO 11*

Gatto europeo MC 4 anni

Portato a visita per neovascolarizzazione e proliferazione corneale con presenza di placche biancastre riferibili a cheratite eosinofilica all'occhio destro. L'esame citologico non veniva effettuato perché il proprietario lo aveva rifiutato per motivi economici. Veniva prescritta Idoxuridina topica q2h e doxiciclina per os e dopo una settimana si consigliava di inserire nel protocollo terapeutico la ciclosporina 0,2 % topica q12h. Dopo la prima visita il soggetto è stato perso al follow up.

### *CASO CLINICO 12*

Gatto europeo FS 6 anni

Gatto portato a visita per opacità corneali all'occhio sinistro. Il paziente aveva sofferto di pregresse congiuntiviti ricorrenti. L'esame clinico evidenziava iperemia congiuntivale, depigmentazione del margine libero della terza palpebra, cheratite con neovascolarizzazione, granulazione e depositi simil caseosi corneali. L'esame citologico non veniva effettuato perché il proprietario lo aveva rifiutato per motivi economici. Veniva prescritta Idoxuridina topica q2h e doxiciclina per os e dopo una settimana si consigliava di inserire nel protocollo terapeutico la ciclosporina 0,2 % topica q12h. Dopo la prima visita il soggetto è stato perso al follow up.

### *CASO CLINICO 13*

Gatto europeo MC 7 anni

Portato a visita per lieve chemosi congiuntivale, neovascolarizzazione corneale con cheratite e depositi biancastri sulla superficie corneale dell'occhio destro. Si sospettava una cheratite eosinofilica già in parziale remissione per un trattamento in corso con corticosteroidi locali. Si decideva quindi di continuare la terapia locale già in corso aggiungendo



ganciclovir topico q6h. Dopo la prima visita il soggetto è stato perso al follow up.

#### *CASO CLINICO 14*

Gatto europeo MC 4 anni

Il paziente presentava lieve iperemia congiuntivale, cheratite moderata con neovascolarizzazione sia a destra che a sinistra. Si sospettava una cheratocongiuntivite eosinofilica in parziale remissione perché il soggetto ha fatto corticosteroidi sistemici per una cistite. Si decideva di somministrare ciclosporina 0,2 % topica q12h e ganciclovir topico q4h, il citologico non veniva effettuato perché sarebbe stato poco significativo. Dopo la prima visita il soggetto è stato perso al follow up.

#### *CASO CLINICO 15*

Gatto europeo FS 12 anni

Il paziente presentava all'occhio sinistro iperemia congiuntivale, edema corneale con depositi biancastri, neovascolarizzazione. L'esame citologico non veniva effettuato perché il proprietario lo aveva rifiutato per motivi economici. Veniva prescritta Idoxuridina topica q2h e doxiciclina per os e dopo una settimana si consigliava di inserire nel protocollo terapeutico la ciclosporina 0,2 % topica q12h. Dopo la prima visita il soggetto è stato perso al follow up.

## 2.3 CONCLUSIONI

Nel nostro studio il 66,6 % dei pazienti erano gatti maschi castrati. Nel 13,5% dei gatti l'occhio affetto risultava il destro, nel 60% dei gatti il sinistro, nel 26,5 % sia il destro che il sinistro. I gatti esaminati erano tutti europei. In un loro lavoro anche Spiess et al (2009) avevano ottenuto una maggiore prevalenza di gatti maschi castrati, anche se, secondo la maggior parte degli altri autori, non sembra esserci alcuna predisposizione di sesso. In accordo con lo studio pubblicato da Dean e Meunier (2012) e con la letteratura in generale la forma monolaterale era maggiormente rappresentata nei soggetti da noi valutati (73,5 % dei soggetti). I gatti colpiti rientravano essenzialmente in due fasce di età: animali adulti (3-7 anni) e anziani (12-16 anni). Nei primi era più frequente la forma classica della cheratocongiuntivite eosinofila con depositi corneali biancastri simil-caseosi, neovascolarizzazione e congiuntivite. Negli animali anziani più difficilmente abbiamo riscontrato questa forma, ma più che altro si rilevava cheratite con neovascolarizzazione, chemosi, a volte associata ad erosioni corneali, probabilmente perché gli animali erano immunodepressi e con patologie concomitanti che hanno potuto determinare una riattivazione dell'FHV-1. Come già descritto in letteratura (Morgan et al.,1996), nei casi clinici da noi valutati la neovascolarizzazione corneale era frequente (66 % dei soggetti), così come l'iperemia congiuntivale (73 %). Frequente anche il processo di granulazione a livello corneale con la presenza di depositi simil caseosi (66%). La chemosi congiuntivale è stata osservata nel 27 % dei soggetti, la depigmentazione del margine libero della terza palpebra e il blefarospasmo, invece, nel 14,5 %. In un solo caso era presente soltanto congiuntivite in assenza di alterazioni a livello corneale. Rispetto ai casi clinici di congiuntivite eosinofila descritti da Allgoewer (2001), in quest'ultimo caso era presente soltanto chemosi e

iperemia congiuntivale mentre era assente la depigmentazione ed erosione del margine palpebrale inferiore. E' da sottolineare che in molti casi da noi osservati non è stato possibile formulare una diagnosi certa ma solo presuntiva in base all'aspetto clinico e alla risposta al trattamento. L'esame citologico è stato eseguito, infatti, su 7 gatti. In un solo caso la componente mastocitaria era predominante. I restanti pazienti presentavano un quadro caratterizzato da una predominante presenza di eosinofili, alcuni neutrofili e scarsi o assenti mastociti. La popolazione non infiammatoria era costituita prevalentemente da cellule poligonali in cluster pavimentosi e singole, con citoplasma basofilo. La displasia epiteliale era presente in tutti i campioni con moderata anisocariosi. I nostri risultati citologici sono assimilabili a quanto descritto in letteratura (Prasse & Winston, 1996) tranne che per la presenza dei linfociti, del tutto assenti nei nostri campioni. La risposta alla terapia era evidente già dalla prima settimana, con la sola associazione di antivirali topici e doxiciclina per os, dando un'ulteriore conferma della possibile eziologia infettiva alla base della patologia. In letteratura (Spiess et al 2009) è descritto l'utilizzo della ciclosporina 1,5% topica. Nel nostro studio abbiamo utilizzato la ciclosporina 0,2 % topica q12h che si è dimostrata ugualmente efficace nella maggior parte dei casi. Molti pazienti, sono stati persi al follow up, il che ha limitato molto la valutazione dell'efficacia terapeutica a lungo termine. Nei casi refrattari alla sola ciclosporina, l'associazione con il desametasone 0,2 % topico è risultato un valido trattamento. Dopo la remissione della fase acuta è necessario trovare una dose minima efficace che limiti le recidive; si può tentare di sospendere la terapia dopo un periodo lungo di trattamento (almeno qualche mese) e dopo aver ridotto in modo progressivo la frequenza di somministrazione. Il tempo di risoluzione è circa due mesi in accordo con quanto riportato da Morgan (1996), il quale ha inoltre riportato un maggior numero di recidive nei pazienti con follow up più lungo. E'

quindi importante che i proprietari vengano informati dell'andamento cronico della patologia e che il gatto deve essere controllato periodicamente.

## BIBLIOGRAFIA

Aguirre GD, Rubin LF, Bistner SI: *Development of the canine eye*. Am J Vet Res, 33: 2399-2414, 1972.

Allgoewer I, Schaffer EH, Stockhaus C, Vogtlin A. *Feline eosinophilic cconjunctivitis*. Vet Ophthalmol. 2001;7:69–74.

Arffa RC: Physiology. In: Arffa RC (ed), *Grayson's diseases of the cornea*. Mosby, St. Louis, 25-32, 1991.

Barrett PM, Scagliotti RH, Merideth et al: *Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs*. Progr Vet & Comp Ophthalmol, 1:245-254, 1991.

Berryhill BL, Kane B, Stramer BM et al: *Increased SPARC accumulation during corneal repair*. Exp Eye Res, 77:85-92, 2003.

Blocker T, Van Der Woerd A: *A comparison of corneal sensitivity between brachycephalic and domestic short-haired cats*. Vet Ophtalmol, 4: 127-130, 2001.

Brightman AH, Vestre WA, Helper LC, et al. *Chronic eosinophilic keratitis in the cat*. Feline Pract, 9:21-24, 1979.

Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT: *Corneal neovascularization*. Curr Opin Ophtalmol, 12: 242-249, 2001.

Chang-Ling T: *Sensitivity and neural organization of the cat cornea*. Invest Ophtalmol Vis Sci, 30:1075-1082, 1989.

Cintron C, Covington HI: *Proteoglycan distribution in developing rabbit cornea*. J Histochem Cytochem, 38:675-684, 1990.

Cook CS: *Ocular embryology and congenital malformations*. In: Gelatt KN (ED), *Veterinary ophthalmology*. Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, 3-30, 1999.

Dean E, Meunier V: *Feline eosinophilic keratoconjunctivitis: a retrospective study of 45 cases (56eyes)*. *Journal of feline medicine and surgery*, 8:661-666, 2013.

Edelhauser HF, Ubels JL: *Cornea and sclera*. In: Kaufman Pl, Alm A (eds), *Adler's physiology of the eye*. Mosby, St. Louis, X edizione, 47-114, 2003.

Gan L, Fagerholm P, Palmblad J: *Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 in the regulation of corneal neovascularization and wound healing*. *Acta Ophtalmol Scand*, 82: 557-563, 2004.

Garcia-Hirschfeld J, lopez-Briones LG, Belmonte C: *Neurotrophic influences on corneal epithelial cells*. *Exp Eye Res*, 59:597-605, 1994.

Gelatt KN, Brooks DE: *The canine glaucomas*. In: Gelatt KN (ED), *Veterinary ophthalmology*. Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, III edizione, 701-754, 1999.

Gipson IK, Spurr-Michaud S, Tisdale A, Keough M: *Reassembly of the anchoring structures of the corneal epithelium during wound repair in the rabbit*. *Invest Ophtalmol Vis Sci*, 30: 425-434, 1989.

Goldman JN, Benedek GB: *The relationship between morphology and transparency in the nonswelling corneal stroma of the shark*. *Invest Ophtalmol*, 6: 574-600, 1967.

Goldman JN, Benedek GB, dohlman CH, Kravitt B: *Structural alterations affecting transparency in swollen human corneas*. Invest Ophtalmol, 7:501-519, 1968.

Good KL, Maggs DJ, Hollingsworth SR et al: *Corneal sensitivity in dogs with diabetes mellitus*. Am J Vet Res, 64: 7-11, 2003.

Hanna C, Bicknell DS, O'Brien JE: *Cell turnover in the adult human eye*. Arch Ohtalmol, 65: 695-698,1961.

Marfurt CF, Jones MA, Tharasher K: *Parasympathetic innervations of the rat cornea*. Exp Eye Res, 66: 437-448, 1998.

Marfurt CF, Murphy CJ, Florczak JL: *Morphology and neurochemistry of canine corneal innervations*. Invest Ophtalmol Vis Sci, 42: 2442-2251, 2001.

Maurice DM: *The structure and transparency of the cornea*. J Physiol, 136:263-286, 1957.

Maurice DM: *The transparency of the corneal stroma*. Vision Res, 10: 107-108, 1970.

Meek KM, Fullwood NJ: *Corneal and sclera collagens a microscopist's perspective*. Micron, 32: 261-272, 2001.

Meek KM, Boote C: *The organization of collagen in the corneal stroma*. Exp Eye Res, 78: 503-512, 2004.

Morgan RV, Abrams KL, Kern TJ. *Feline eosinophilic keratitis: A retrospective study of 54 cases*. Vet Comp Ophthalmol. 1996;6:131–134.

Nasisse MP, Glover TL, Moore CP, Weigler BJ. *Detection of Feline Herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration*. Am J Vet Res.1998;59:856–858

Paulsen ME, Lavach JD, Severin GA, Eichenbaum JD. *Feline eosinophilic keratitis: A review of 15 clinical cases.* J Am Anim Hosp Assoc. 1987;23:63–69.

Pepose JS, Uvels JL: *The cornea.* In: Hart WM (ED), *Adler's physiology of the eye.* Mosby, St. Louis, IX edizione, 1992.

Prasse KW, Winston SM. *Cytology and histology of feline eosinophilic keratitis.* Vet Comp Ophthalmol. 1996;6:74–81.

Rosenberg ME, Tervo TM, Immonen IJ et al: *Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 41: 2915–2921, 2000.

Saini JS, Khandalavla B: *Corneal epithelial fragility in diabetes mellitus.* Can J Ophthalmol, 30:142–146, 1995.

Samuelson DA: *Ophthalmic anatomy.* In Gelatt KN (ED), *Veterinary Ophthalmology.* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, III edizione, 1999.

Spiess, A.K., Sapienza, J.S. & Mayordomo, A. *Treatment of proliferative feline eosinophilic keratitis with topical 1.5% cyclosporine: 35 cases.* Veterinary Ophthalmology, 12:132–137, 2009.

Swank A, Hosgood G: *Corneal wound healing and the role of growth factors.* The Compendium, 18:1007–1016, 1996.

Von Bomhard, W., Polkinghorne, A., Huat, Z., et al. (2003) *Detection of novel chlamydiae in cats with ocular disease.* American Journal of Veterinary Research, 64: 1421–1428, 2003.

Woo HM, Bentley E, Campbell SF et al: *Nerve growth factors and corneal wound healing in dogs.* Exp Eye Res, 80: 633–642, 2005.



Yang CF, Yasukawa T, Kimura H et al: *Experimental corneal neovascularization by basic fibroblast growth factors incorporated into gelatin hydrogel*. Ophthalmic Res, 32:19-24, 2000.

Yasuda M, Shimzu S, Tokuyama S et al: *A novel effect of polymorphonuclear leukocytes in the facilitation of angiogenesis*. Life Sci, 66: 2113-2121, 2000.